

P. A. Moscoso-Ramírez^{1,2} L. Palou¹

EVALUACIÓN DE PARABENOS SÓDICOS EN POSCOSECHA PARA EL CONTROL DE LAS PODREDUMBRES VERDE Y AZUL DE LOS CÍTRICOS

¹ Laboratori de Patologia
Centre de Tecnologia Postcollita (CTP)
Institut Valencià d'Investigacions
Agràries (IVIA)
Apartat Oficial,
46113 Montcada, València
E-mail: palou_llu@gva.es

² Campus Tabasco,
Colegio de Postgraduados
86500 H. Cárdenas, Tabasco, México
E-mail: moscoso@colpos.mx

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades poscosecha de mayor importancia económica en los cítricos en España, Estados Unidos de Norteamérica y áreas de producción con clima mediterráneo con lluvias escasas en verano, son las podredumbres verde (PV) y azul (PA) causadas por *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. y *P. italicum* Wehmer, respectivamente (Ecker y Eaks, 1989) (Foto 1). Estas enfermedades son controladas principalmente con fungicidas sintéticos convencionales tales como los clásicos imazalil y tiabendazol. Sin embargo, el desarrollo de resistencia a fungicidas por parte de los fitopatógenos limita la comercialización de frutos cítricos a nivel mundial debido al decremento de la efectividad de los fungicidas (Brent y Hollomon, 2007).

EL control biológico (microorganismos antagonistas), físico (calor y radiaciones) y el uso de productos químicos de baja toxicidad tales como aditivos alimentarios constituyen métodos alternativos de control de enfermedades de pos-

Resumen

Se evaluó la actividad curativa de tratamientos poscosecha con metil (MPS), etil (EPS) y propil (PPS) parabeno sódico contra las podredumbres verde (PV) y azul (PA) en naranjas y mandarinas inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y *P. italicum* e incubadas a 20°C y 90% HR durante 7 días. Se realizaron pruebas *in vivo* con naranjas 'Valencia Late' para seleccionar las concentraciones más efectivas (200 mM MPS, 80 mM EPS y 100 mM PPS), que posteriormente se probaron en ensayos a pequeña escala como baños a 20, 50 o 62°C durante 30, 60 o 150 s para determinar las mejores condiciones de baño. Se seleccionaron baños de los parabenos sódicos a 20°C durante 60 s y se aplicaron solos o combinados con 25 ppm del fungicida convencional imazalil. También se aplicó en estos ensayos el imazalil solo a las bajas dosis de 25 y 50 ppm. Los tres parabenos sódicos mostraron compatibilidad con el imazalil y, en general, la combinación con este fungicida aumentó la efectividad de los tratamientos individuales. Los tres parabenos sódicos, aplicados solos a 20°C durante 60 s, controlaron más eficazmente la PV y la PA en naranjas (cvs. 'Valencia Late' y 'Lanelate') que en mandarinas (cvs. 'Nadorcott', 'Ortanique' y 'Clemenules'). Se puede concluir que baños a temperatura ambiente en soluciones de MPS, EPS o PPS presentan potencial para poder ser incluidos en el futuro como una alternativa en programas de CINCEP ('Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha') para frutos cítricos.

Summary

The curative antifungal activity of postharvest sodium methyl (MPS), ethyl (EPS), and propylparaben (PPS) treatments against citrus green (PV) and blue (PA) molds was evaluated on oranges and mandarins artificially inoculated with *Penicillium digitatum* and *P. italicum* and incubated at 20°C and 90% RH for 7 days. Effective concentrations were selected in *in vivo* primary screenings with 'Valencia Late' oranges. SMP, SEP and SPP at 200, 80 and 100 mM, respectively, were tested at 20, 50 or 62°C for 30, 60 or 150 s in small-scale trials to determine the best dip treatment conditions. Dips at 20°C for 60 s were selected and applied alone or in combination with 25 ppm of the conventional fungicide imazalil. Imazalil alone, at the very low concentrations of 25 and 50 ppm, was also tested in these trials. All three sodium paraben salts were compatible with imazalil and, in general, the effectiveness of the combination was significantly higher than that of standalone treatments. Effectiveness of sodium parabens, applied alone at 20°C for 60 s, was significantly higher on oranges (cvs. 'Valencia Late' and 'Lanelate') than on mandarins (cvs. 'Nadorcott', 'Ortanique' and 'Clemenules'). It can be concluded from these results that room temperature aqueous solutions of MPS, EPS and PPS show the potential to be included in the future as an alternative in nonpolluting integrated management programs for the control of citrus postharvest diseases.

cosecha que han sido investigados en los últimos años (Montesinos-Herrero *et al.*, 2009; Palou *et al.*, 2002b, 2008; Smilanick *et al.*, 2008; Valencia-Chamorro *et al.*, 2009) como posibles integrantes de programas de "Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha" (CINCEP) para

frutos cítricos (Palou, 2011). Los aditivos alimentarios son comúnmente usados para regular pH, sabor y textura de los alimentos, y algunos de ellos, como los parabenos, tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana y son usados en la preservación de alimentos (Arslan *et al.*, 2009). El metil y el etil parabeno y

POSCOSECHA PARA EL CONTROL DE LAS PODREDUMBRES VERDE Y AZUL DE LOS CÍTRICOS



Foto 1. Podredumbres verde (derecha) y azul (izquierda) en una naranja inoculada artificialmente con los patógenos *Penicillium digitatum* y *P. italicum*.



Foto 2. Aspecto de los hongos *Penicillium digitatum* (izquierda) y *P. italicum* (derecha) en placas de medio PDA incubadas a 25°C durante 7 días.



Foto 3. Inoculación fúngica de una naranja mediante la producción de una herida en la zona ecuatorial de la piel con un punzón previamente sumergido en una suspensión de conidios del hongo patógeno.



Foto 4. Tanque con resistencias eléctricas y cubos y cestas de acero inoxidable utilizados para los baños en soluciones acuosas calientes de parabenos sódicos.

Foto 5. Naranjas 'Valencia Late' inoculadas con *Penicillium digitatum* y *P. italicum* en caras opuestas de la zona ecuatorial, bañadas 24 h después durante 60 s con agua a 20°C (control, 3 repeticiones de arriba) o metilparabeno sódico a 200 mM (3 repeticiones de abajo) e incubadas a 20°C durante 7 días.



sus sales sódicas, con los números E 218, 214, 219 y 215 respectivamente, están autorizados para uso en alimentos por las normativas de la Unión Europea y son generalmente reconocidas como sustancias seguras (GRAS, Generally Regarded As Safe) por la legislación de Estados Unidos (Milss *et al.*, 2004). La excepción la constituye el propil parabeno y su sal sódica que, con los antiguos números E 216 y 217, fueron excluidos de la lista de aditivos autorizados. No obstante, puesto que la piel de los cítricos no se utiliza para el consumo humano, sigue teniendo sentido evaluar su efectividad como tratamiento antifúngico alternativo.

Estudios realizados por Giordano *et al.* (1999) han demostrado que la actividad antimicrobiana de los parabenos aumenta a medida que la longitud del radical alquilo aumenta y viceversa. Las sales de sodio de parabenos tales como el metilparabeno sódico (MPS), el etilparabeno sódico (EPS) y el propilparabeno sódico (PPS) han demostrado potencial para el control de enfermedades de poscosecha de cítricos y fresa (Valencia-Chamorro *et al.*, 2008, 2009; Yildirm y Yapici, 2007). Sin embargo, en estos estudios los parabenos fueron aplicados en condiciones *in vitro* y/o como ingredientes de recubrimientos comestibles. Por lo tanto, ante la poca información disponible sobre el uso de los parabenos en aplicaciones directas sobre el fruto, y particularmente contra podredumbres causadas por *P. digitatum* y *P. italicum* en frutos cítricos, nuestro grupo de investigación del CTP del IVIA se planteó un amplio estudio de investigación sobre esta temática, cuyos resultados han sido parcialmente publicados (Moscoso-Ramírez *et al.*, 2013a,b). En el presente artículo se resumen las investigaciones que se llevaron a cabo con los siguientes objetivos: 1) evaluar la actividad curativa de los tres parabenos sódicos a diferentes concentraciones contra PV y PA, 2) determinar las condiciones de tratamiento de baño de los parabenos sódicos, 3) determinar la compatibilidad de los parabenos sódicos con dosis bajas de imazalil bajo condiciones de baño seleccionadas, y 4) determinar la efectividad de los parabenos en las especies y cultivares de cítricos de mayor importancia económica en España.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Fruta y productos utilizados

Los frutos utilizados en los experimentos fueron naranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cvs. Valencia Late y Lanelate, mandarinas clementinas cvs. Nadorcott (*C. reticulata* x *C. sinensis*; sin.: 'Afourer', 'W. Murcott') y Clemenules (*Citrus reticulata* Blanco; sin.: 'Nules', 'Clementina de Nules') y mandarinas híbridas cv. Ortanique [*C. reticulata* x (*Citrus sinensis* x *C. reticulata*)]. La fruta se recolectó en campos de producción comercial del área de Valencia y se almacenó hasta 5 días a 5°C antes de su uso. Antes de cada experimento, los frutos fueron seleccionados, aleatorizados, lavados con agua del grifo y secados a temperatura ambiente. Los parabenos utilizados como antifúngicos fueron metil, etil y propil parabeno sódico.

2. Inoculación fúngica

Los patógenos *P. digitatum* y *P. italicum* se obtuvieron de la colección de cultivos fúngicos del CTP del IVIA. Los hongos fueron sembrados y cultivados en placas Petri con medio patata dextrosa agar (PDA) e incubados a 25°C durante de 7 a 14 días (Foto 2). Los conidios de cada patógeno se tomaron de la superficie de las placas y se preparó una suspensión en agua estéril con 0,05% (p/v) de Tween 80 de 10⁶ conidios/mL tras determinar la concentración con un hematocitómetro. La punta de un punzón de acero inoxidable de 1 mm de ancho y 2 mm de largo se sumergió en la correspondiente suspensión de conidios y se insertó inmediatamente en la piel del fruto (Foto 3). Los frutos se inocularon en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial, uno con *P. digitatum* y el otro con *P. italicum*. La fruta inoculada se mantuvo a temperatura ambiente hasta el momento del tratamiento, aproximadamente 24 horas después.

3. Determinación de la concentración más efectiva

Se efectuó en pruebas *in vivo* de evaluación primaria en las que se prepararon soluciones acuosas estériles a las concentraciones de 0,1, 1, 10, 40, 70, 100, 150, 200 y 250 mM para MPS, 0,1, 1, 10, 20, 30, 40, 70 y 100 mM para EPS y 0,1,

1, 4, 7, 10 and 100 mM para PPS mediante diluciones hechas a partir de soluciones madres (250, 100 y 100 mM, respectivamente). Aproximadamente 24 horas después de la inoculación de los patógenos, se pipetearon 30 µL de MPS, EPS o PPS a las concentraciones correspondientes sobre la misma herida de inoculación de cada hongo. El control se trató con 30 µL de agua destilada estéril. Los tratamientos consistieron en 4 repeticiones de 5 naranjas 'Valencia Late' cada una para cada concentración de los distintos parabenos sódicos y patógeno. La fruta inoculada y tratada se incubó a 20°C y 90% HR durante 6 días. Se midieron la incidencia (número de heridas infectadas, en %) y la severidad (diámetro de lesión, en mm) de la PV y la PA.

4. Condiciones de baño

Para establecer las mejores condiciones para un hipotético tratamiento por inmersión, se realizaron ensayos de actividad curativa a escala pequeña. Los tratamientos se realizaron en cubos de acero inoxidable con 10 L de una solución acuosa de MPS a 200 mM, EPS a 80 mM o PPS a 100 mM. Estas concentraciones fueron las más efectivas de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas *in vivo* realizadas previamente para la determinación de la concentración. Cuando fue necesario, las soluciones se calentaron colocando los cubos en agua dentro de un tanque de acero inoxidable de 250 L de capacidad con dos resistencias eléctricas de 4,5 kW cada una, un termostato y un sistema de recirculación de agua automático. Naranjas 'Valencia Late', inoculadas con 10⁶ conidios/mL de *P. digitatum* y *P. italicum* unas 24 horas antes se colocaron dentro de cestas de acero inoxidable de 18 L de capacidad con paredes perforadas que encajaban perfectamente dentro de los cubos mencionados anteriormente, y se sumergieron completamente dentro de la solución correspondiente. La fruta control se sumergió en agua sola a 20°C (Foto 4). Después del tratamiento, la fruta tratada con los parabenos sódicos se aclaró con agua del grifo a baja presión durante 5 s, se dejó secar al aire y se colocó en alvéolos de plástico en bandejas de cartón abiertas. Para cada tratamiento se usaron 3 repeticiones de 20 frutos cada una. La fruta tratada se incubó a 20°C y 90% HR durante 7 días,

tras los cuales se registró la incidencia de las podredumbres. Tras 3 días se inspeccionó la fruta para evaluar posibles daños en la piel debidos a los tratamientos.

5. Combinación con dosis bajas de imazalil

Para determinar el efecto de la combinación de los parabenos sódicos con dosis bajas del fungicida sintético imazalil en el control de la PV y la PA, naranjas 'Valencia Late' se inoculaban con *P. digitatum* y *P. italicum* de acuerdo a lo descrito anteriormente y, 24 horas después, se realizaron los siguientes tratamientos: (1) Control (agua desionizada), (2) MPS a 200 mM (MPS), (3) EPS a 80 mM (EPS), (4) PPS a 100 mM (PPS), (5) imazalil a 25 µL/L (ppm) (IMZ 25), (6) imazalil a 50 µL/L (IMZ 50), (7) combinación de MPS a 200 mM con imazalil a 25 µL/L (MPS + IMZ 25), (8) combinación de EPS a 80 mM con imazalil a 25 µL/L (EPS + IMZ 25) y (9) combinación de PPS a 100 mM con imazalil a 25 µL/L (PPS + IMZ 25). Para cada tratamiento se usaron 3 repeticiones de 20 frutos cada una. Para las combinaciones no se aplicaron baños sucesivos sino que se realizó un solo baño en una mezcla de los dos productos. Los baños se realizaron a 20°C durante 60 s y la fruta se aclaró únicamente para los tratamientos de parabenos sódicos aplicados solos. La fruta tratada se incubó a 20°C y 90% HR durante 7 días, después de los cuales se registró la incidencia de la PV y la PA.

6. Efectividad en distintos cultivares

Para valorar si la actividad curativa de los tratamientos con los parabenos sódicos dependía de la fruta hospedera, naranjas cvs. Valencia y Lanelate y mandarinas cvs. Nadorcott, Ortanique y Clemenules se sometieron a los siguientes tratamientos: (1) MPS a 200 mM (MPS), (2) EPS a 80 mM (EPS) y (3) PPS a 100 mM (PPS). Los tratamientos se aplicaron a fruta inoculada previamente como baños a 20°C durante 60 s y la fruta se aclaró con agua del grifo durante 5 s. Cada tratamiento consistió de 3 repeticiones de 20 frutos cada una. La inoculación fúngica y los tratamientos de baño siguieron la misma metodología anteriormente descrita. La fruta tratada se incubó a 20°C y 90% HR durante 7 días. Se registró la incidencia de la PV y la PA.

7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, los valores de incidencia de enfermedad se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje y los valores transformados se analizaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa Statgraphics Plus 4.1 (Manugistics Inc., Rockville, Maryland, EE UU). Las medias se separaron mediante la prueba de la Mínima Diferencia Significativa (MDS) de Fisher ($p \leq 0,05$). Los valores mostrados son los no transformados.

RESULTADOS

1. Concentración más efectiva

Los tres parabenos sódicos inhibieron el desarrollo de la PV y la PA en naranjas 'Valencia Late' tratadas 24 horas después de la inoculación e incubados a 20°C y 90% HR durante 6 días. El MPS a las concentraciones de 150, 200 y 250 mM suprimió totalmente el desarrollo de las dos podredumbres (reducción de incidencia del 100%). Asimismo, el MPS a las concentraciones

de 40 y 70 mM también redujo significativamente la severidad de la PV y la PA, concretamente en un 82 y 60%, y en un 66 y 47%, respectivamente. El resto de las concentraciones de MPS evaluadas no redujeron la severidad de manera significativa de las podredumbres (Fig. 1).

En el caso del EPS, la concentración de 70 mM fue la más efectiva inhibiendo completamente el desarrollo de la PV y la PA después de 6 días de incubación. Además, concentraciones de 20 y 40 mM inhibieron al 100% el desarrollo de la PV, pero no el de la PA. Asimismo, se observaron reducciones de incidencia de la PA significativas del 87, 62, 93 y 80% a las concentraciones de 20, 30, 40 y 100 mM, respectivamente. Además, la concentración de 30 mM de EPS efectivamente redujo la severidad de la PV y la PA en un 77 y 66%, respectivamente (Fig. 1).

El PPS a 100 mM inhibió completamente el desarrollo de la PA y redujo significativamente la incidencia de la PV hasta un 94% en naranjas 'Valencia Late' después de 6 días de incubación a 20°C. Además, concentraciones de 7 y 10 mM

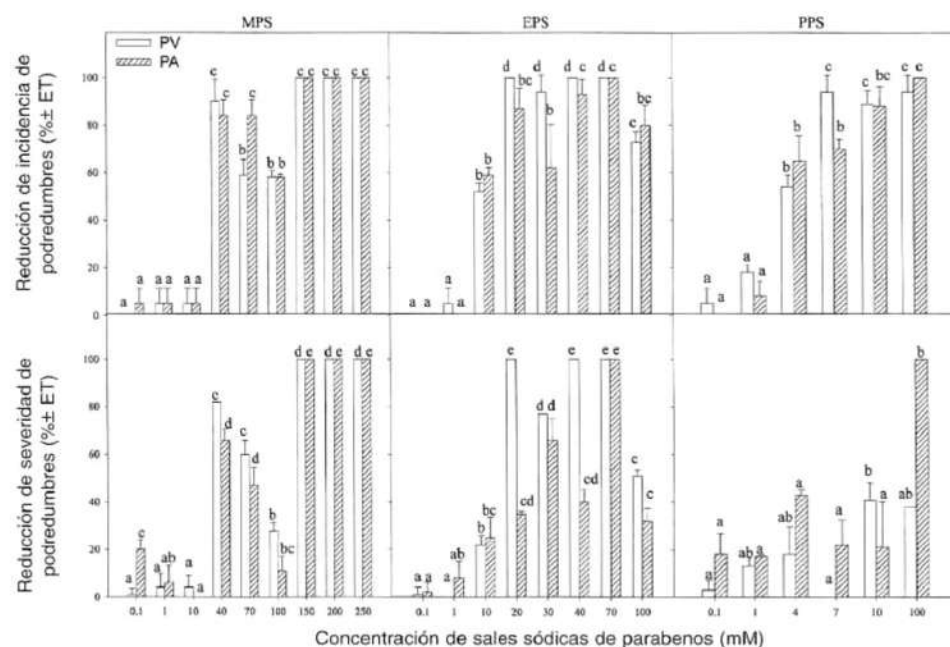


Fig. 1. Actividad curativa del metil (MPS), etil (EPS) y propil (PPS) parabeno sódico a distintas concentraciones contra las podredumbres verde (PV) y azul (PA) en naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, tratadas 24 horas más tarde e incubadas durante 6 días a 20°C. Las reducciones de incidencia y severidad se determinaron con respecto a la fruta control tratada con agua (incidencia del 90-100% para ambas podredumbres y severidad de 89-125 mm y 36-45 mm para la PV y la PA, respectivamente). Para cada podredumbre, columnas con letras distintas son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la MDS ($p \leq 0,05$) aplicada después de un ANOVA. Se aplicó la transformación arcoseno a los valores de incidencia. Se muestran las medias no transformadas.

redujeron la incidencia de la PV y la PA de manera importante. PPS a la concentración de 100 mM también redujo significativamente la severidad de la PV y la PA con reducciones del 38 y 100%, respectivamente (Fig. 1).

2. Condiciones de baño

En función de los resultados de los ensayos anteriores y de pruebas adicionales (datos no mostrados), se seleccionaron las concentraciones de 200 mM de MPS, 80 mM de EPS y 100 mM de PPS para los ensayos de actividad curativa de baños.

Los baños con EPS a 20 o 50°C durante 30, 60 y 150 s redujeron de manera similar la incidencia de la PV (Fig. 2). Asimismo, baños de 60 o 150 s a 62°C fueron más efectivos que baños a 30 s a la misma temperatura, con reducciones de la PV del 93, 97 y 78%, respectivamente, después de 7 días de incubación a 20°C. Por otro lado, baños con EPS durante 150 s a 20 o 62°C redujeron significativamente la incidencia de la PA comparada con baños de 30 s, con reducciones del 85 y 95%, y del 57 y 83%, respectivamente. Sin embargo, los baños aplicados durante 30, 60 y 150 s a 50°C tuvieron efectos similares en la reducción de la PA (Fig. 2). Los baños con EPS fueron generalmente más efectivos a 62°C, pero causaron daños en la piel de hasta un 37% de los frutos (datos no mostrados).

En general, estos resultados con baños con EPS fueron similares a los encontrados con baños con MPS y PPS cuando se evaluaron las mismas temperaturas y tiempos de inmersión (datos no mostrados; Foto 5). Los baños a 50°C no fueron más efectivos que los baños a 20°C para controlar las podredumbres. Además, los baños a 20°C durante 150 s no mejoraron la efectividad que los de 60 s a la misma temperatura. Por lo tanto, baños con EPS, MPS y PPS a 20°C durante 60 s fueron seleccionados para usarlos en ensayos subsecuentes.

3. Combinación con dosis bajas de imazalil

Los tres tratamientos de baños combinados aplicados a naranjas 'Valencia Late' a 20°C durante 60 s, MPS + IMZ 25,

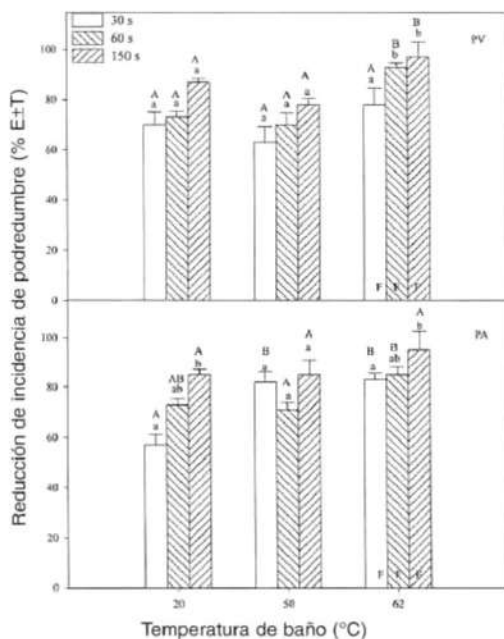


Fig. 2. Efecto de la temperatura y tiempo de baño sobre la efectividad del etilparabeno sódico (EPS) en el control de las podredumbres verde (PV) y azul (PA) en naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, tratadas 24 horas más tarde e incubadas durante 7 días a 20°C. La reducción de incidencia se determinó respecto a la fruta control tratada con agua (incidencia del 100% en todos los casos). Para cada podredumbre, columnas con letras minúsculas y mayúsculas distintas indican tiempo y temperatura de baño significativamente diferentes, respectivamente, de acuerdo a la prueba de la MDS ($p \leq 0.05$) aplicada después de un ANOVA a los valores sometidos a la transformación arcoseno. Se muestran medias no transformadas. 'F' indica fitotoxicidad ligera en la piel de la fruta.

EPS + IMZ 25 y PPS + IMZ 25, con reducciones de incidencia del 97, 93 y 96% respectivamente, mejoraron significativamente el control de la PV respecto a cuando los tres parabenos sódicos se aplicaron solos (reducciones del 63, 73 y 72% de la PV. Estos valores de reducción fueron estadísticamente iguales a los obtenidos con los tratamientos IMZ 25 y IMZ 50 (50 y 68%) (Fig. 3). En el caso de la PA, la reducción de incidencia para el tratamiento combinado MPS + IMZ 25 fue similar a las reducciones observadas con los tratamientos MPS y IMZ 50, que ranguearon entre 80 y 95%. El tratamiento combinado EPS + IMZ 25 mejoró el control de la PA y fue similar al tratamiento IMZ 50. Contrariamente, el tratamiento combinado PPS + IMZ 25 no mejoró el control de la PA comparado con el control obtenido cuando estos dos tratamientos fueron aplicados solos (Fig. 3).

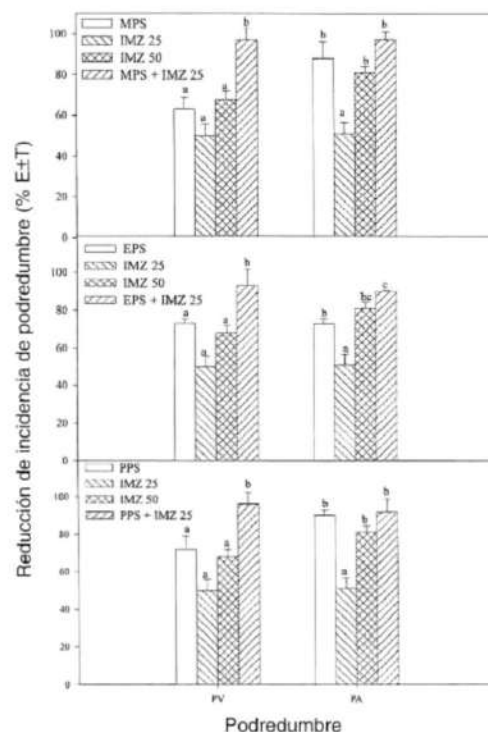


Fig. 3. Efectividad del metil (MPS, 200 mM), etil (EPS, 80 mM) y propil (PPS, 100 mM) parabeno sódico aplicados solos, 25 ppm de imazalil (IMZ 25), 50 ppm de imazalil (IMZ 50) y las combinaciones de los parabenos sódicos y 25 ppm de imazalil (MPS + IMZ 25, EPS + IMZ 25 y PPS + IMZ 25) en el control de las podredumbres verde (PV) y azul (PA) en naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, bañadas 24 horas más tarde durante 60 s a 20°C e incubadas durante 7 días a 20°C. La reducción de incidencia se determinó respecto a la fruta control tratada con agua (incidencia del 100% y 98-100% para la PV y la PA, respectivamente). Para cada podredumbre, columnas con letras distintas son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la MDS ($p \leq 0.05$) aplicada después de un ANOVA a los valores sometidos a la transformación arcoseno. Se muestran medias no transformadas.

4. Efectividad en distintos cultivares

En general, el tratamiento con MPS a 200 mM aplicado a 20°C durante 60 s controló ambas podredumbres después de la incubación a 20°C durante 7 días más efectivamente en naranjas que en mandarinas, excepto en el caso de mandarinas 'Nadorcott'. El MPS redujo significativamente la incidencia de la PV y la PA en un 63 y 38%, y en un 88 y 57% en naranjas 'Valencia Late' y 'Lanelate' respectivamente, mientras que la reducción en mandarinas 'Ortanique' y 'Clemenules' no superó el 20% (Fig. 4).

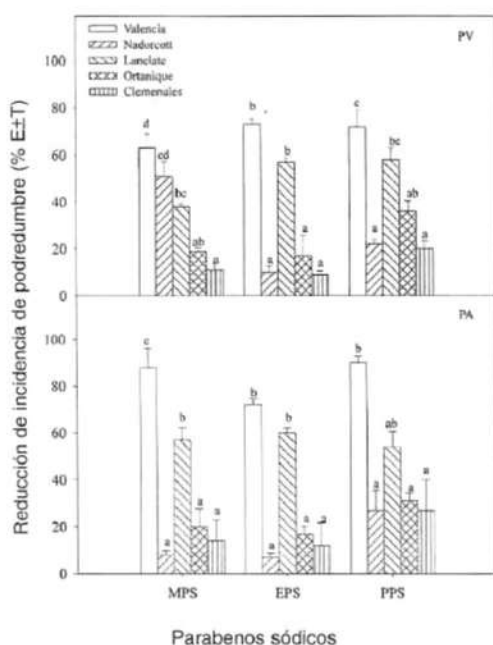


Fig. 4. Incidencia de las podredumbres verde (PV) y azul (PA) en distintos cultivares de naranjas y mandarinas inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, bañadas 24 horas más tarde con agua (control), metilparabeno sódico a 200 mM (MPS), etilparabeno sódico a 80 mM (EPS) o propilparabeno sódico a 100 mM (PPS) durante 60 s a 20°C e incubadas durante 7 días a 20°C. La reducción de incidencia se determinó respecto a la fruta control tratada con agua (incidencia del 93-100% y 95-100% para la PV y la PA, respectivamente). Para cada podredumbre y tratamiento de baño, columnas con letras distintas son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de la MDS ($p \leq 0.05$) aplicada después de un ANOVA a los valores sometidos a la transformación arcoseno. Se muestran medias no transformadas.

Por otro lado y de manera similar, el EPS a 80 mM aplicado sólo fue más efectivo para controlar las podredumbres en naranjas que en mandarinas y redujo significativamente la incidencia de la PV y la PA en un 73 y 57%, y en un 72 y 60% en naranjas 'Valencia Late' y 'Lanelate' respectivamente (Fig. 4). Por el contrario, la reducción de la incidencia de ambas podredumbres fue menor del 20% en mandarinas.

Similarmente, baños con PPS a 100 mM, aplicados en las mismas condiciones de temperatura y duración que los baños con MPS y EPS, controlaron mejor las podredumbres en naranjas que en mandarinas. Reducciones de incidencia de la PV y la PA del 72 y 58%, y del 90 y 54% se registraron cuando PPS se apli-

có en naranjas 'Valencia Late' y 'Lanelate' respectivamente, mientras que en mandarinas estas reducciones fueron únicamente de alrededor del 35% (Fig. 4).

DISCUSIÓN

Se obtuvieron excelentes resultados de efectividad cuando los parabenos sódicos (MPS a 200 mM, EPS a 80 mM y PPS a 100 mM) se aplicaron en baños a 20°C durante 60 s sobre naranjas previamente inoculadas artificialmente con *P. digitatum* y *P. italicum*. Sin embargo, esta actividad curativa fue algo más baja que la obtenida en las pruebas *in vivo* de selección primaria de la mejor concentración, en las que la reducción de la incidencia de las podredumbres a estas concentraciones fue prácticamente del 100% (Fig. 1). Esta diferencia fue posiblemente debida a que el tiempo de contacto entre la solución acuosa de los parabenos sódicos con la herida de la piel de la fruta en la que se había inoculado el patógeno fue mayor en las pruebas preliminares de concentración (soluciones aplicadas con micropipeta) que en el caso de los tratamientos con baños.

Se ha reportado que, en general, la toxicidad y la actividad antimicrobiana de los parabenos y sus sales sódicas aumenta a medida que lo hace la longitud del radical alquilo (Giordano *et al.*, 1999). Esta tendencia ha quedado confirmada en estos ensayos por el hecho de que en las pruebas para la determinación de la concentración óptima se requirió casi el doble de concentración de MPS (radical alquilo más corto) que de EPS o PPS. También se corroboró si se tienen en cuenta las reducciones de la incidencia de las podredumbres obtenidas cuando los parabenos sódicos fueron aplicados en baños en naranjas (MPS a 200 mM, EPS a 80 mM y PPS a 100 mM).

En general, el control de las podredumbres no mejoró significativamente cuando se aumentó la temperatura de baño en los tratamientos con los tres parabenos sódicos, lo que parece indicar que la sinergia entre el calor (agua calentada a temperaturas no fitotóxicas) y los parabenos sódicos para el control de la PV y la PA es más baja que la sinergia observada entre el calor y otros aditivos alimentarios probados también como tratamientos alternativos al control químico

convencional (Palou *et al.*, 2001; Montesinos-Herrero *et al.*, 2009). Esto podría deberse a que los parabenos sódicos son estables a altas temperaturas sin cambios importantes en su actividad antimicrobiana (Soni *et al.*, 2005). Este hallazgo podría facilitar la adopción comercial de tratamientos poscosecha con parabenos sódicos en las centrales citrícolas, desde el punto de vista del ahorro en los costes de producción que supone la no necesidad de instalación de sistemas de calentamiento de los caldos.

Los parabenos sódicos y el imazalil a una dosis tan baja como 25 ppm fueron compatibles para su aplicación en naranjas 'Valencia Late' y la combinación mejoró la efectividad de los dos tratamientos por separado en el control de la PV y la PA, sólo con la excepción del PPS con imazalil para controlar la PA. Esto puede ser importante porque actualmente el sector de la exportación precisa de tratamientos alternativos que les permitan reducir significativamente los niveles de residuos de fungicidas en los frutos, para satisfacer así las demandas particulares de muchos clientes europeos. Además, una rebaja sustancial en la presión de selección sobre los patógenos puede retrasar a largo plazo la proliferación de cepas resistentes de *P. digitatum* y *P. italicum*, lo cual puede ser muy útil en los programas de manejo de las centrales citrícolas que aun no presenten problemas importantes de resistencias.

En el ensayo de efectividad de los parabenos sódicos en los distintos cultivares de cítricos, se encontró que los tres parabenos sódicos controlaron consistentemente las podredumbres en naranjas, mientras que el control fue muy limitado en mandarinas. Estas diferencias muestran la fuerte influencia que las características intrínsecas de los frutos (genéticas y también el estado físico y fisiológico en el momento del tratamiento de poscosecha) tienen tanto en la susceptibilidad de los frutos a la infección por *P. digitatum* o *P. italicum* como en la respuesta de los frutos a la actividad de los parabenos sódicos. Resultados similares se han observado con otros aditivos alimentarios como carbonatos o sorbatos que se han evaluado como sustitutos de los fungicidas convencionales (Montesinos-Herrero *et al.*, 2009; Palou *et al.*, 2001, 2002a). Se ha comprobado que el

modo de acción de estos productos alternativos de bajo riesgo es más fungistático que fungicida y depende en gran medida de las interacciones que se producen entre producto químico, huésped y patógeno. Además, a diferencia de los fungicidas sintéticos, que son capaces de matar directamente el hongo patógeno, la actividad curativa de estos productos alternativos es poco persistente.

Este trabajo demuestra que los distintos parabenos sódicos, aplicados como tratamientos de poscosecha en solución acuosa de forma adecuada, pueden controlar satisfactoriamente las podredumbres causadas por *Penicillium* spp. en naranjas, por lo cual se pone a disposición del sector una nueva herramienta potencial para aquellos casos en que el mercado de destino o el tipo de producción no admitan fungicidas convencionales o limiten la cantidad de sus residuos a niveles muy bajos. Puesto que los resultados indican que el uso del PPS no implica un aumento significativo de efectividad respecto al del MPS y el EPS, se recomienda la utilización de estos dos últimos por su actual inclusión en la lista de aditivos alimentarios autorizados en la UE. La naturaleza poco tóxica de estos productos, que precisamente posibilita su clasificación como aditivos alimentarios o sustancias GRAS, implica limitaciones importantes en su capacidad de control, como por ejemplo su efectividad limitada en mandarinas o en partidas de fruta altamente susceptibles a las podredumbres. La posible utilización comercial de estos aditivos alimentarios en programas de control integrado de enfermedades de poscosecha de cítricos dependerá de si los productores y/o empresas del sector

consideran pertinente realizar estudios económicos y de viabilidad para su posible registro para este uso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Fontestad S.A. (Montcada, Valencia) la colaboración prestada en el suministro de fruta y asistencia técnica. Este estudio fue parcialmente financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (proyecto AGL2004-05271) y la Unión Europea (Programa FEDER). Pedro Moscoso disfrutó de una beca predoctoral financiada por el "Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México" (CONACYT-124182-México).

Referencias bibliográficas

- Arslan, U., İlhan, K., Vardar, C., Karabulut, O.A. 2009. Evaluation of antifungal activity of food additives against soilborne phytopathogenic fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 537-543.
- Brent, K.J., Hollomon, D.W. 2007. Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can It Be Managed? FRAC Monograph No. 1, 2ª ed., Bruselas, Bélgica.
- Eckert, J.W., Eaks, I.L. 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. En: W. Reuter, E.C. Calavan, G.E. Carman (eds.), *The Citrus Industry*, vol. 5. University of California Press, Berkeley, CA, EE UU. pp. 179-260.
- Miss, A.A.S., Platt, H.W., Hurta, R.A.R. 2004. Effect of salt compounds on mycelial growth, sporulation and spore germination of various potato pathogens. *Postharvest Biol. Technol.* 34: 341-350.
- Montesinos-Herrero, C., del Río, M.A., Pastor, C., Brunetti, O., Palou, L. 2009. Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest penicillium decay on major citrus specie and cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 52: 117-125.
- Moscoso-Ramírez, P.A., Montesinos-Herrero, C., Palou, L. 2013a. Characterization of postharvest treatments with sodium methylparaben to control citrus green and blue molds. *Postharvest Biol. Technol.* 77: 128-137.

- Moscoso-Ramírez, P.A., Montesinos-Herrero, C., Palou, L. 2013b. Control of citrus postharvest penicillium molds with sodium ethylparaben. *Crop. Prot.* 46: 44-51.
- Palou, L. 2011. Control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha (CINCEP): nuevo paradigma para el sector español de los cítricos. *Levante Agrícola* 406, 173-183.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Droby, S. 2008. Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharv. Rev.* 2: 1-16.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Usall, J., Viñas, I. 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, sodium bicarbonate. *Plant Dis.* 85: 371-376.
- Palou, L., Usall, J., Muñoz, J.A., Smilanick, J.L., Viñas, I. 2002a. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins. *Postharvest Biol. Technol.* 24: 93-96.
- Palou, L., Usall, J., Smilanick, J.L., Aguilar, M.J., Viñas, I. 2002b. Evaluation of food additives and low-toxicity compounds as alternative chemicals for the control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Pest Manag. Sci.* 58: 459-466.
- Smilanick, J.L., Mansour, M.F., Gabler, F.M., Sorenson, D. 2008. Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. *Postharvest Biol. Technol.* 47: 226-238.
- Soni, M.G., Carabin, I.G., Burdock, G.A. 2005. Safety assessment of esters of *p*-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food Chem. Toxicol.* 43: 985-1015.
- Valencia-Chamorro, S.A., Pérez-Gago, M.B., del Río, M.A., Palou, L. 2009. Curative and preventive activity of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible composite coatings containing antifungal food additives to control citrus postharvest green and blue molds. *J. Agric. Food Chem.* 57: 2770-2777.
- Valencia-Chamorro, S.A., Palou, L., del Río, M.A., Pérez-Gago, M.B. 2008. Inhibition of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* by hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible composite films containing food additives with antifungal properties. *J. Agric. Food Chem.* 56: 11270-11278.
- Yildirm, I., Yapici, B.M. 2007. Inhibition of conidia germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by some alternative chemicals. *Pakistan J. Biol. Sci.* 10: 1294-1300.



APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CONTROL FITOSANITARIOS

Autor: Santiago Soria Carreras, Santiago Soria Ruiz-Ogarrio. Páginas: 148 (2012)

Índice: Maquinaria de aplicación de plaguicidas: tipos, conservación y regulación. Métodos de aplicación de productos fitosanitarios. Desinsectación, desinfección y desratización de instalaciones. Equipos de aplicación: funcionamiento de los distintos tipos. Principales máquinas y equipos. Clasificación: espolvoreadores, pulverizadores, atomizadores, fumigadores, nebulizadores. Preparación, mezcla y aplicación de productos fitosanitarios. Procedimientos de actuación. Preparación, regulación y calibración de maquinaria y equipos de tratamientos. Puesta a punto. Preparación de caldos o polvos. Aplicación de los mismos. Recogida de productos y subproductos del proceso de aplicación. Limpieza, mantenimiento y revisiones de los equipos. Prácticas de aplicación. Ejercicios de desarrollo de casos prácticos. Eliminación de residuos. Eliminación de envases vacíos. Buenas prácticas y prevención de riesgos relacionados con el control fitosanitario. Riesgos derivados de la utilización de productos fitosanitarios para la salud. Nivel de exposición del operario. Peligrosidad de los productos fitosanitarios para la salud. Residuos de los productos fitosanitarios: riesgos para terceros. Intoxicaciones y otros efectos perjudiciales para la salud. Medidas preventivas y protección del aplicador. Práctica de la protección fitosanitaria. Primeros auxilios. Riesgos derivados de la utilización de plaguicidas para el medio ambiente. Principios de trazabilidad. Buenas prácticas ambientales en la práctica fitosanitaria (manejo de residuos, envases vacíos, etc.). Normativa básica relacionada con el control de plagas, enfermedades, malas hierbas y fisiopatías. Relación trabajo-salud.

P.V.P. 24 €- (Envíos contra reembolso. I.V.A. incluido. Gastos de envío aparte)
PARA PEDIDOS: EDICIONES L.A.V., S.L. Tel.: 96/ 372 02 61 - pedidos@edicioneslav.com